

PEMBIAKAN TANAMAN HUTAN SECARA VEGETATIF (TEKNIK KULTUR JARINGAN)

Lanjutan

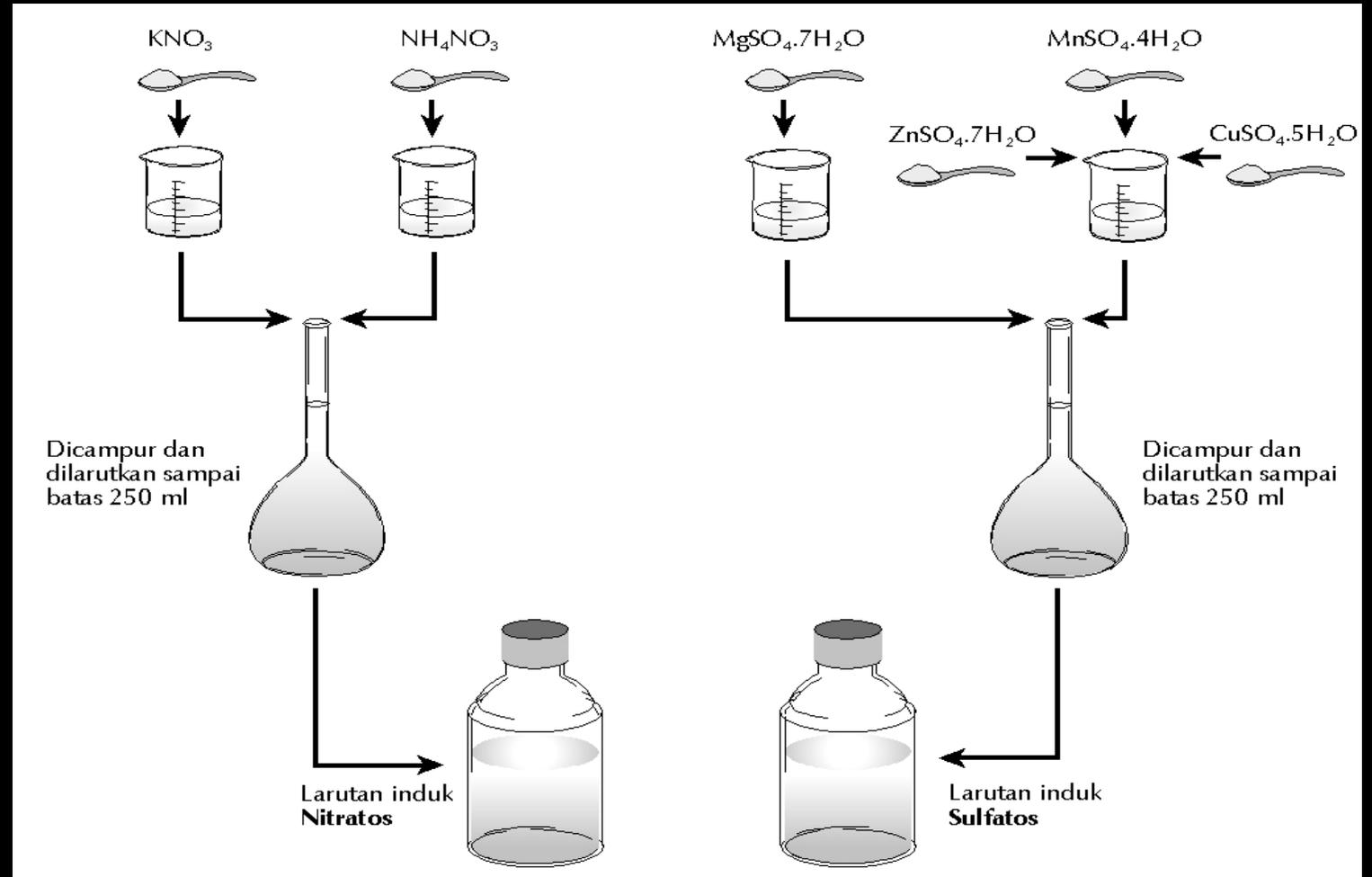
Hanna Artuti



2. Pembuatan media

Menyiapkan media kultur

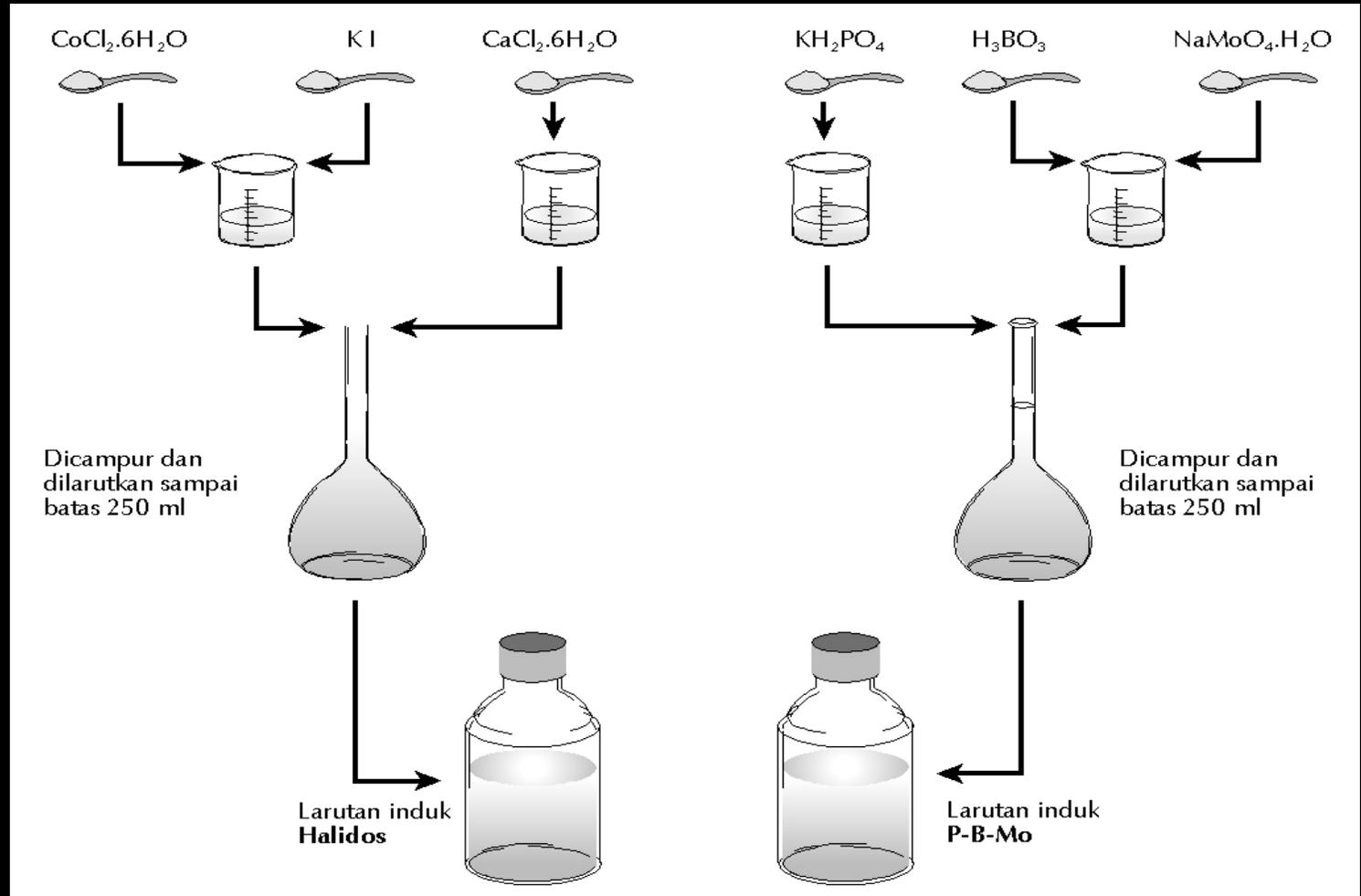
Pembuatan Larutan Stok Unsur Makro



2. Pembuatan media

Menyiapkan media kultur

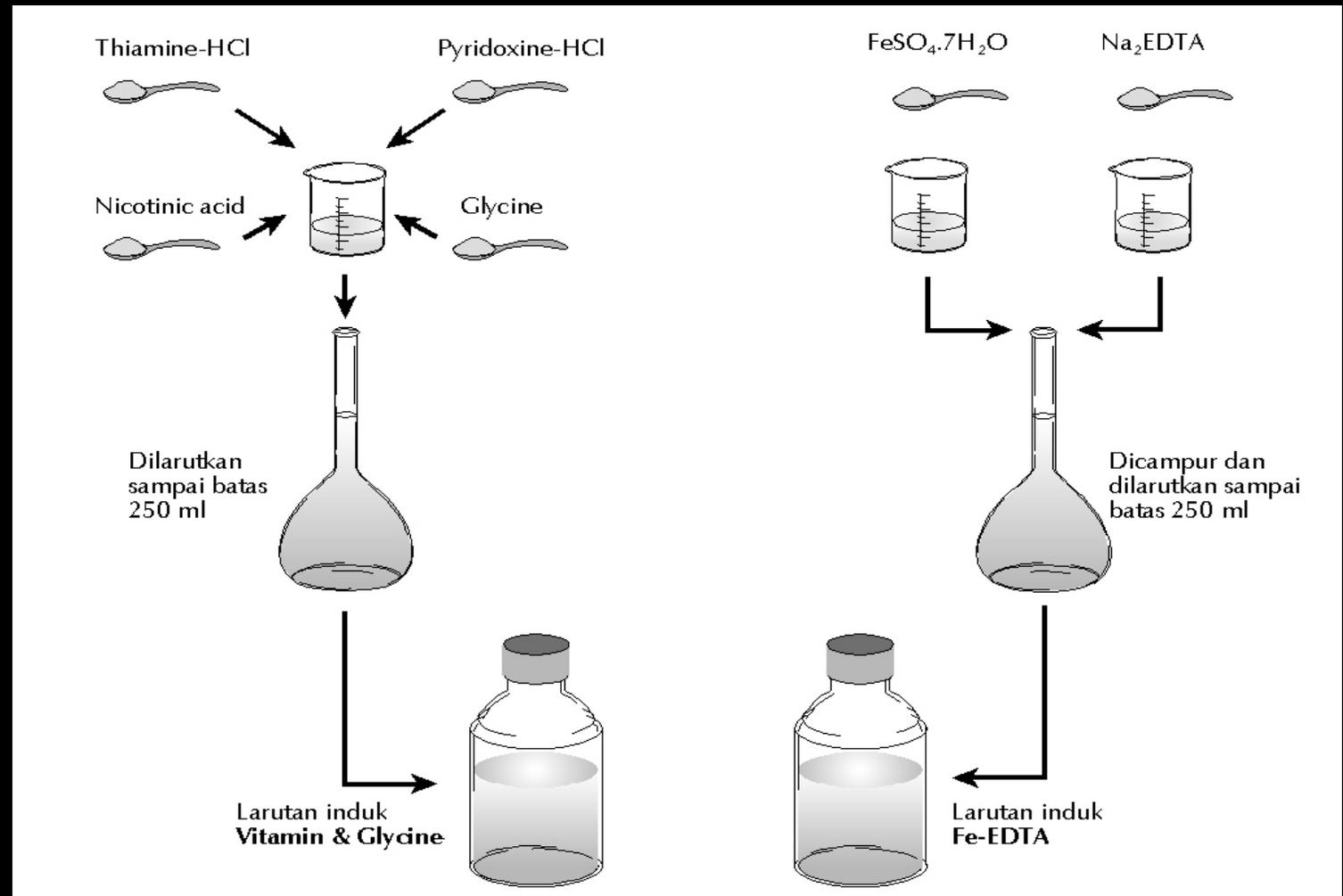
Pembuatan Larutan Stok Unsur Mikro



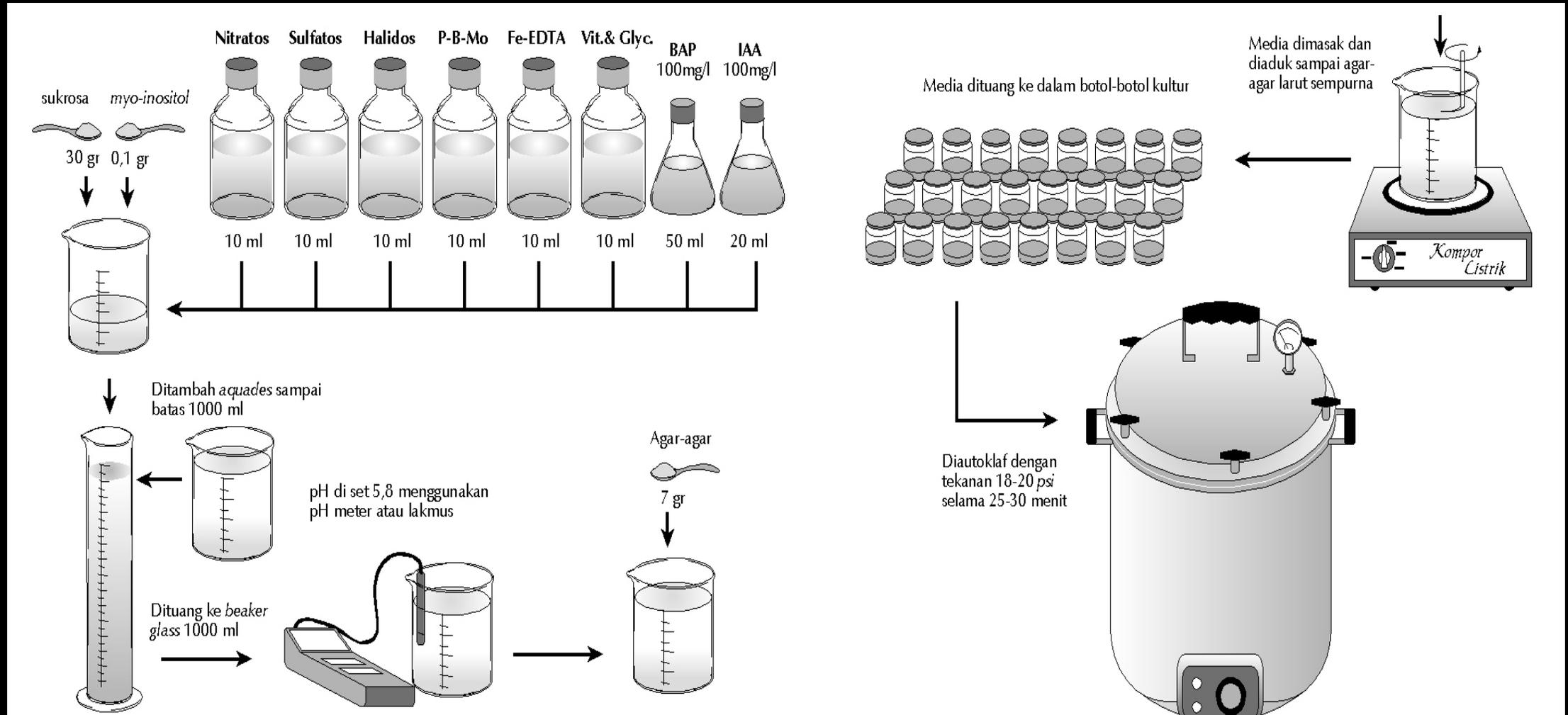
2. Pembuatan media

Menyiapkan media kultur

Pembuatan Larutan Induk Vitamin

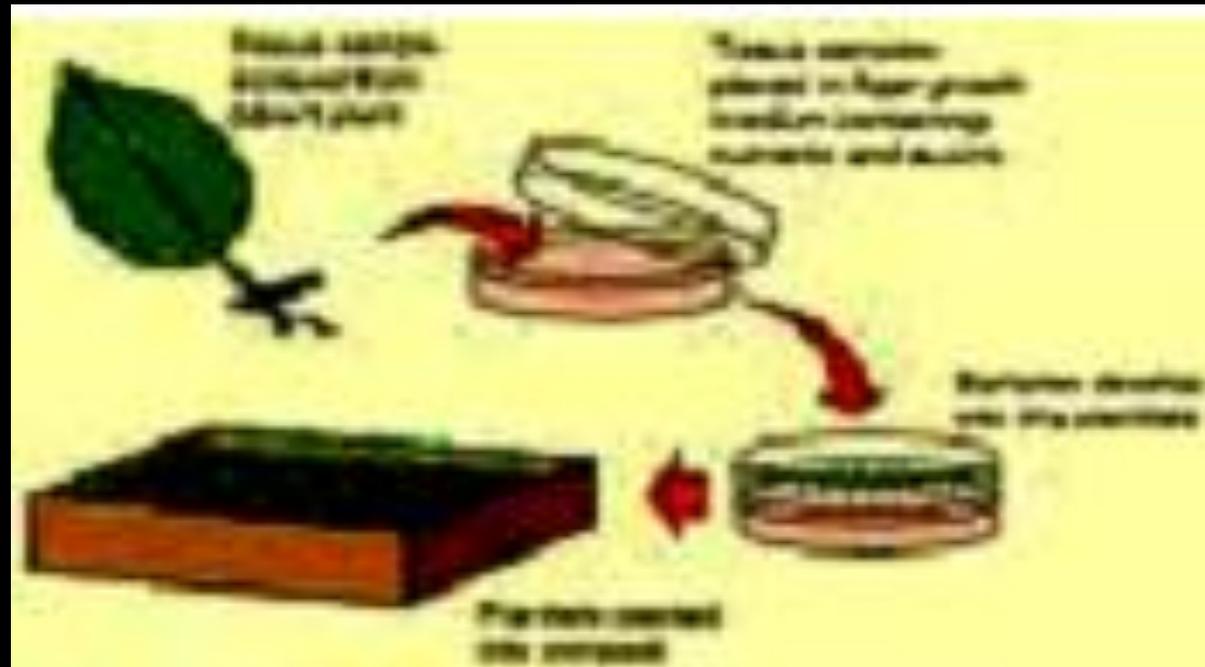
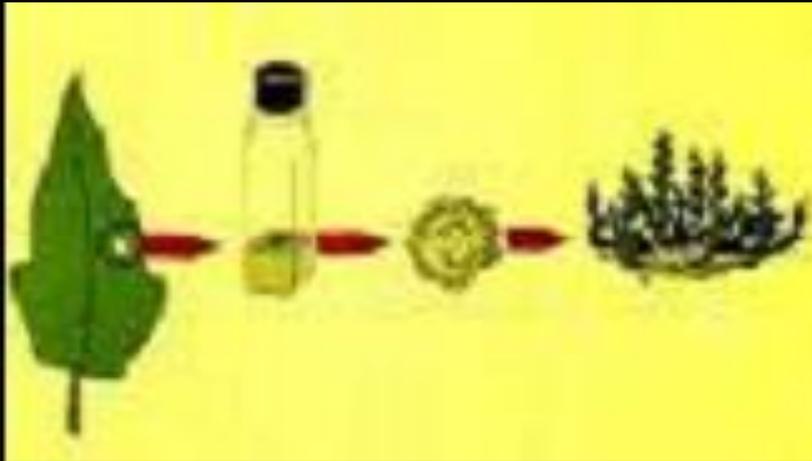


2. Pembuatan media dan sterilisasi media



3. *Persiapan eksplan*

- Bahan yang akan digunakan sebagai eksplan sebaiknya berasal dari bagian tanaman yang masih muda dan sehat.



3. Persiapan eksplan

- Eksplan adalah bahan tanaman yang dikulturkan.
- Hal-hal yang menentukan keberhasilan eksplan untuk dikulturkan:
 - ✓ Bagian tanaman tempat pengambilan eksplan
 - ✓ Umur antogenik eksplan
 - ✓ Ukuran eksplan
- Umumnya bagian tanaman yang digunakan adalah jaringan tanaman yang masih muda yang sedang tumbuh aktif:
 - Sel-sel masih aktif membelah diri
 - Lebih bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan)

3. Persiapan eksplan

- Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah biji atau bagian-bagian biji (embrio atau kotiledon), tunas pucuk, potongan batang, satu buku, potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, umbi lapis dengan sebagian batang dan bagian bunga.
- Umur antogenik eksplan atau umur antogenik tanaman induk adalah masa transisi dari fase pertumbuhan juvenil menuju fase dewasa; eksplan yang diambil dari tanaman induk yang masih juvenil mudah bergenerasi.
- Eksplan yang berukuran besar beresiko kontaminasi lebih tinggi dibandingkan dengan yang berukuran kecil, tetapi kemampuan hidupnya lebih besar dan tumbuhnya lebih besar.

3. *Persiapan eksplan*

Sumber eksplan dapat diambil dari:

1. Tanaman dewasa

- Kelemahannya :
 - Sterilisasi harus cermat karena diambil dari lapangan
 - Sering menyebabkan *browning* (tanaman dewasa sering mengeluarkan senyawa phenol, yang apabila terkena oksigen dari udara akan menghasilkan senyawa phenolik → eksplan coklat → mati)



Browning menyebabkan warna kecoklatan pada dasar kalus dan medium (kiri). Menambahkan anti oksidant pada medium (tengah) atau arang aktif/ *charcoal* (kanan) akan mengurangi *browning* dan memperbaiki pertumbuhan tunas

3. *Persiapan eksplan*

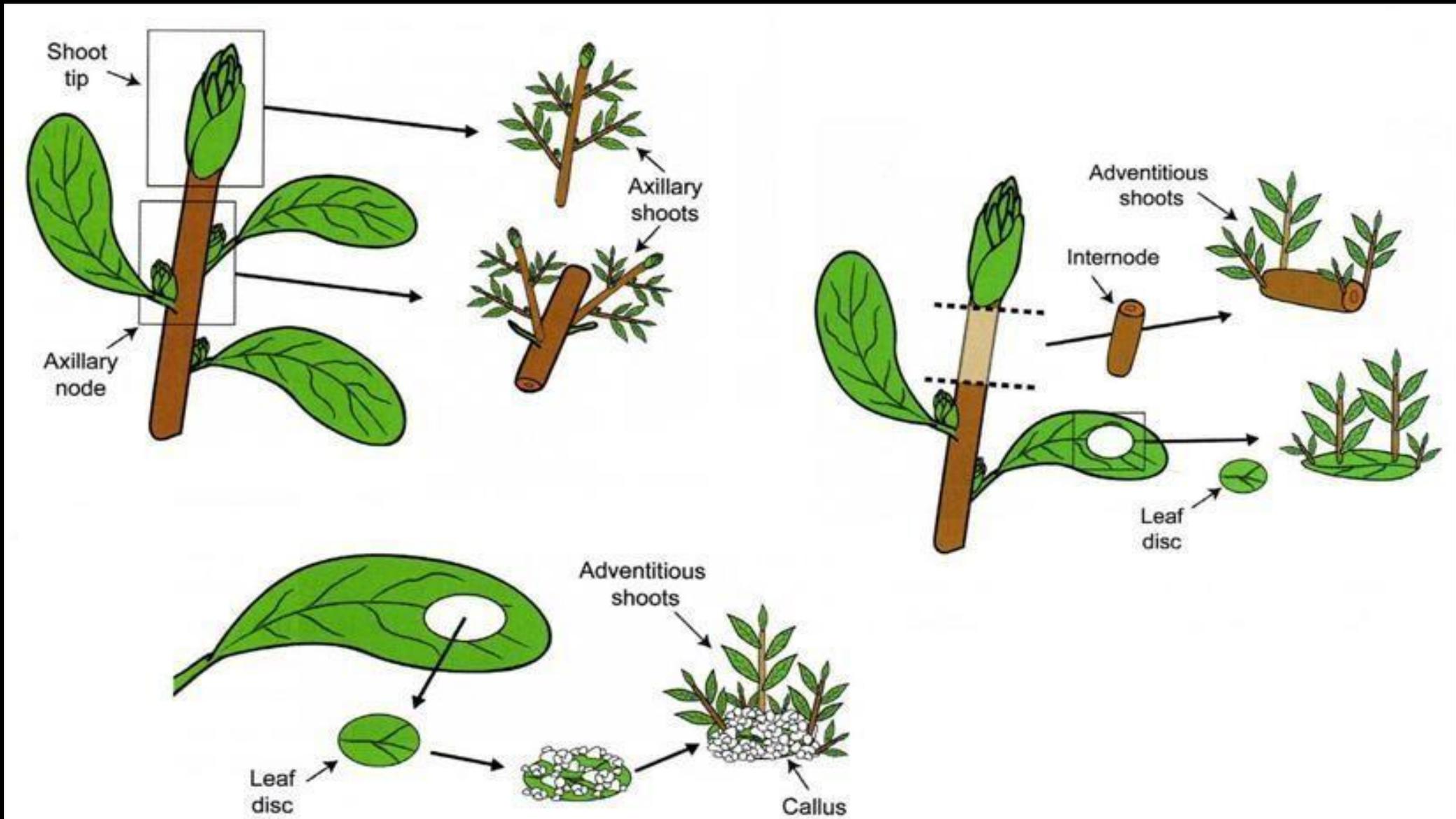
Sumber eksplan dapat diambil dari:

2. Tanaman hasil cangkokan yang ke tiga
(cangkokan ke tiga ditanam di rumah kaca)
3. Tanaman seedling
 - Untuk tanaman keras, bibit diperoleh dari buah/biji yang masak di pohon induk, atau dari balai benih (mengapa?)
 - biji/umbi yang akan dipakai sumber eksplan ditanam di pot, di rumah kaca
 - embrio dapat langsung ditanam *in vitro*

3. Persiapan eksplan

Macam-macam eksplan:

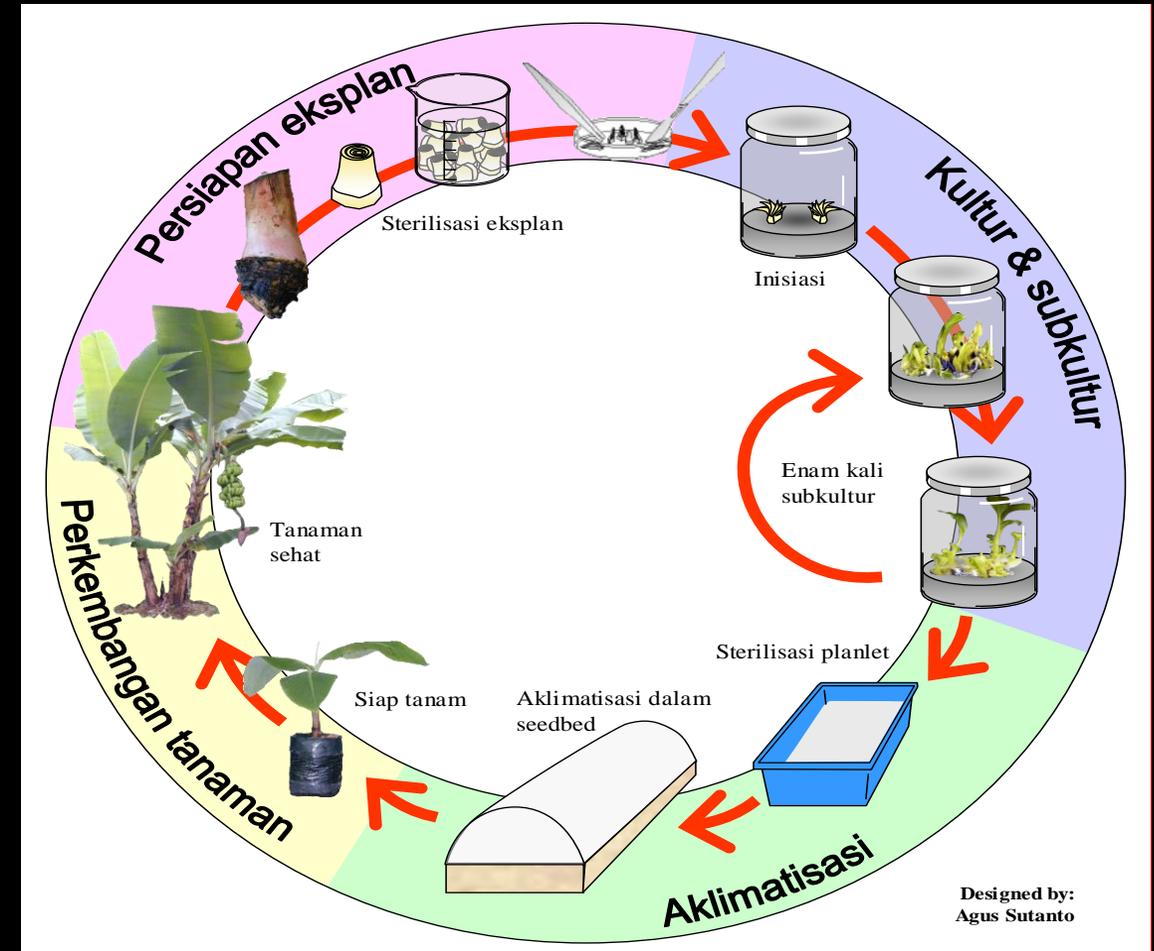
- Pucuk, daun, cabang, petiol, akar, biji, tunas (yang masih baru, atau masih terselubung), kambium, embrio, meristem apikal, kotiledon, hipokotil, buah, bakal buah
- diambil dari organ tanaman yang seragam secara morofologi, tersusun dari 1 tipe sel



Bagian-bagian yang dapat dijadikan sebagai sumber eksplan

4. Inisiasi/Induksi

- Adalah pembuatan kultur dari eksplan yang bebas mikro organisme serta inisiasi pertumbuhan baru.
- Kesesuaian bagian tanaman untuk dijadikan eksplan dipengaruhi oleh kemampuan regenerasi, tingkat fisiologi dan tingkat kesehatan dari tanaman donor.



Teknik inisiasi/induksi tanaman pisang secara kultur jaringan

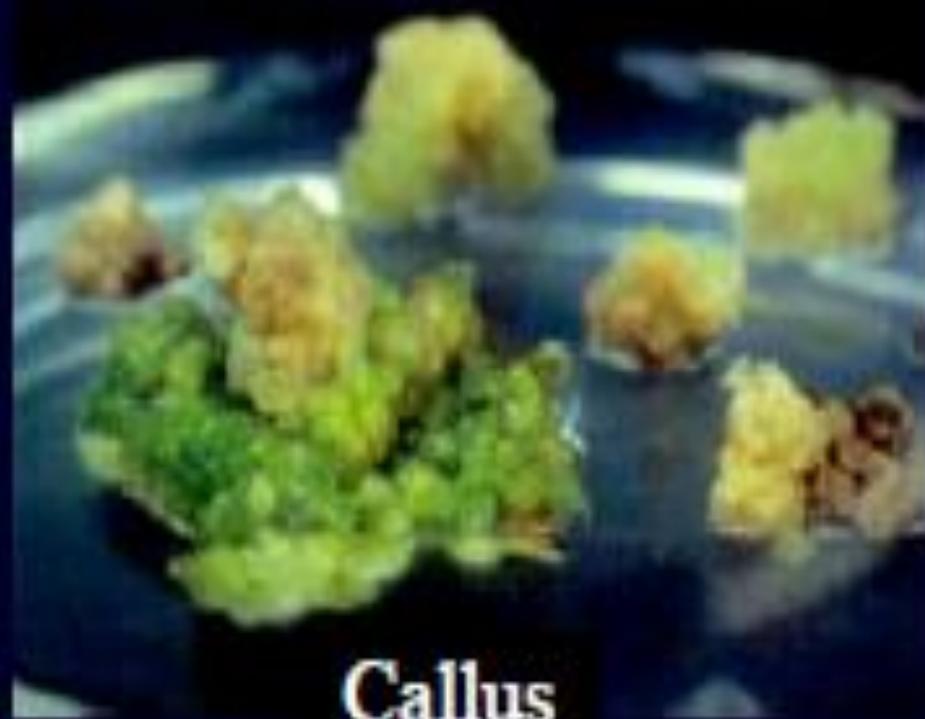
4. *Inisiasi/Induksi*

- Setelah induksi, eksplan akan mengalami morfogenesis yaitu peristiwa terjadinya organisasi dan bentukan baru yg sebelumnya tidak ada.
- Pembentukan organ dapat langsung dari pucuk dan dari eksplan, dan pembentukan organ tak langsung dari kalus.
- Kalus adalah suatu kumpulan sel yang terjadi dari sel-sel jaringan awal yang membelah secara terus menerus. Dalam keadaan in vivo, kalus dapat terbentuk pada bekas-bekas luka akibat infeksi *Agrobacterium tumefaciens*, akibat gigitan atau tusukan serangga.

4. *Inisiasi/Induksi*

- Kalus juga dapat diinduksi secara *in vitro*. Secara *in vitro*, kalus dapat diperoleh dari potongan organ yang steril dan ditumbuhkan didalam media yang mengandung auxin atau kadang-kadang mengandung sedikit sitokinin.
- Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman. Tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula.

Kalus



Callus



**shoots initiating
from callus**

5. Multiplikasi (Perbanyak)

- Adalah perbanyak pucuk-pucuk atau tunas-tunas tanaman dan meningkatkan terjadinya percabangan asiler dan pembentukan pucuk tanaman secara adventip.

6. Perakaran (Rooting)

- Adalah memindahkan hasil multiplikasi atau tunas-tunas ke media perakaran dengan media mengandung hormon untuk pembentukan akar.
- Supaya terjadi pertumbuhan akar, komposisi hormon dalam media harus dirubah. Sitokonin dikurangi atau dihilangkan sama sekali.

7. Aklimatisasi



Planlet pisang siap diaklimatisasi

- Merupakan masa adaptasi tanaman hasil pembiakan secara kultur jaringan yang semula kondisinya terkendali (*in vitro*), kemudian berubah pada lingkungan lapangan yang kondisinya tidak terkendali lagi (*ex vitro*). Disamping itu tanaman juga harus mengubah pola hidupnya dari tanaman heterotrof ke autotrof.

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

1. Genotip

- Tanaman dikotil > tanaman monokotil
- Tanaman kelompok Gymnospermae → juvenil
 - tanaman yang mudah dikembangbiakan secara *in vivo*, juga mudah secara *in vitro*
 - sebaliknya yang bisa dilakukan secara *in vitro* tidak dapat secara *in vivo*
(misal: menghasilkan tunas adventif secara *in vitro*, tidak dapat secara *in vivo*)



Tanaman yg mudah berakar pd wkt diperbanyak dengan stek, biasanya mudah mengalami rejuvenasi pd wkt proses kultur in vitro

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

2. Umur tanaman

- Jaringan embrionik mempunyai kemampuan regenerasi lebih besar, misal: biji & embrio Makin tua umur tanaman, kemampuan regenerasinya makin menurun
- Rejuvenasi (peremajaan tanaman), dapat menghasilkan tunas-tunas yang dapat dipakai sebagai sumber eksplan



Eksplan dari tanaman dewasa (kiri) tunas pendek tidak dapat tumbuh memanjang, eksplan dari tanaman fase juvenil (kanan) tunas tumbuh memanjang

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

3. Umur jaringan atau organ

- Jaringan muda dan masih lunak (tidak berkayu) lebih mudah dikultur dibandingkan jaringan yang lebih tua pada tanaman berkayu.
- Isolasi potongan petiole yang masih sangat muda lebih mudah regenerasi dibandingkan yang muda

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

4. Tahap fisiologis

- Eksplan yang diambil pada tahap **vegetatif** lebih mudah mengalami regenerasi secara in vitro dibanding diambil pada tahap **generatif** (termasuk juga pada umbi, yang akan dipakai sebagai eksplan).

5. Kesehatan tanaman

- Eksplan yang diambil dari tanaman yang sehat akan tumbuh lebih baik selama in vitro

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

6. Pengaruh musim

- Musim, mempengaruhi baik buruknya pertumbuhan eksplan → ada kaitan dengan cadangan makanan yg tersimpan, dormansi, pertumbuhan dsb.

7. Kondisi pertumbuhan

- Tanaman yang tumbuh di rumah kaca, mengalami etiolasi → baik dipakai sumber eksplan (engapa?)

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

8. Posisi eksplan pada tanaman

- Makin tinggi posisi sumber eksplan pada pohon, kemungkinan terbentuknya akar adventif makin rendah

9. Ukuran eksplan

- Ukuran eksplan yang lebih besar lebih mudah tumbuh & regenerasi, karena persediaan cadangan makanan yang dimiliki (pada umbi).
→ kadang2 menyebabkan nutrisi pada media tidak berpengaruh.
- Pada kultur jaringan tertentu, diperlukan ukuran eksplan yg kecil untuk diperoleh pertumbuhan yg diinginkan (misal pd kultur meristem)

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

10. Pelukaan

- Luas pelukaan pada eksplan mempengaruhi pertumbuhan → jumlah nutrisi yang dapat diserap dan peningkatan produksi etilen

11. Metode inokulasi

- Letak eksplan yg diletakkan terbalik (apolar) → eksplan batang yg ditanam apolar, pertumbuhan akar adventif dan tunas lebih mudah dan cepat, dibandingkan ditumbuhkan spt biasa lazimnya.

Pengaruh sumber eksplan pada pertumbuhan & perkembangan

12. Pengaruh pemeliharaan

- Kalus yang diletakkan di tengah-tengah populasi sel, akan mengeluarkan substansi ke medium yang akan memberi pengaruh positif pada pembelahan sel.

13. Preparasi

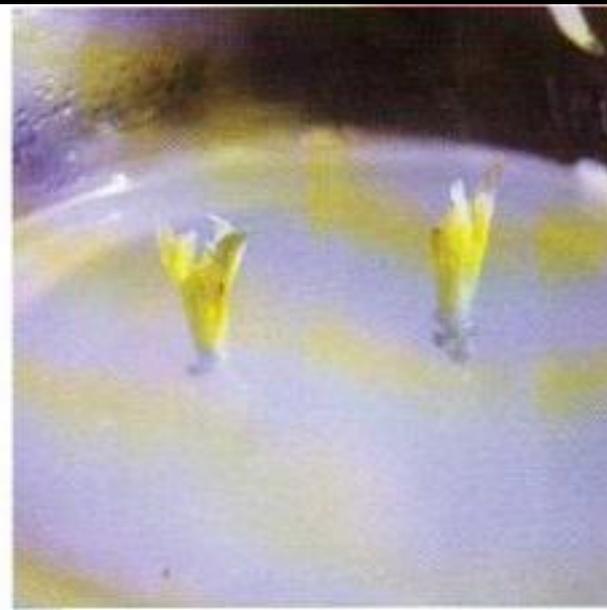
- Mempersiapkan tanaman yang akan dipakai sebagai sumber eksplan
 - perlakuan hormon atau nutrisi (dengan cara penyemprotan, injeksi, perendaman dsb), untuk menghasilkan eksplan yg dapat tumbuh baik.



(a)



(b)



(c)

preparasi eksplan

Masalah pada kultur *in vitro*

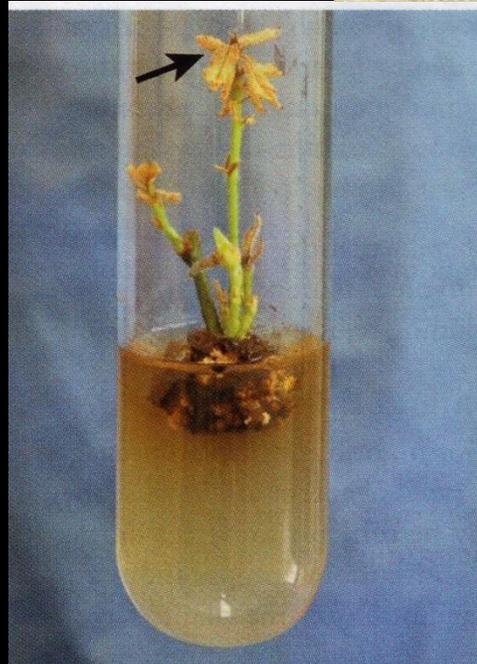
- 1. Hiperhidrisiti (vitrivikasi)** → planlet tampak sukulent, transparant → tidak berkembang
Disebabkan karena : konsentrasi agar yang rendah, konsentrasi ammonium yang tinggi
- 2. Internal patogen**
- 3. Senyawa phenol (*browning*)**
- 4. Nekrosis tunas pucuk (kekurangan kalsium)**
- 5. Proliferasi jaringan**
- 6. Habitulasi**



vitriifikasi

nekrosis tunas pucuk

habituasi



TERIMA KASIH